

PENGARUH NUTRISI DAN PH TERHADAP AKTIVITAS DEKOLORISASI *REMAZOL BRILIANT BLUE R* (RBBR) OLEH ENZIM LIGNINOLITIK DARI JAMUR *PLEUROTUS OSTREATUS* (F114 InaCC) DAN *LENTINULA EDODES* DENGAN SUBSTRAT LIMBAH BATANG AREN



**Disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Strata I pada Jurusan
Teknik Kimia Fakultas Teknik**

Oleh:

SEPTIANA AMBARWATI
D 500 130 085

**PROGRAM STUDI TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNIK
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
2017**

HALAMAN PERSETUJUAN

PENGARUH NUTRISI DAN PH TERHADAP AKTIVITAS DEKOLORISASI *REMAZOL BRILIANT BLUE R* (RBBR) OLEH ENZIM LIGNINOLITIK DARI JAMUR *PLEUROTUS OSTREATUS* (F114 InaCC) DAN *LENTINULA EDODES* DENGAN SUBSTRAT LIMBAH BATANG AREN

NASKAH PUBLIKASI

Oleh:

SEPTIANA AMBARWATI
D 500 130 085

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji oleh:

Dosen Pembimbing



Hamid S.T, M.T.
NIP/NIK. 894

HALAMAN PENGESAHAN

PENGARUH NUTRISI DAN PH TERHADAP AKTIVITAS
DEKOLORISASI *REMazol BRILIANT BLUE R* (RBBR) OLEH
ENZIM LIGNINOLITIK DARI JAMUR *PLEUROTUS OSTREATUS*
(F114 InaCC) DAN *LENTINULA EDODES* DENGAN SUBSTRAT
LIMBAH BATANG AREN

OLEH:

SEPTIANA AMBARWATI
D 500 130 085

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
Fakultas Teknik
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Pada hari Senin, 03 April 2016
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dewan penguji:

1. Hamid S.T, M.T.
(Ketua Dewan penguji)
2. Dr. Ir. A.M.Fuadi, M.T.
(Anggota I Dewan penguji)
3. Rois Fatoni, S.T, M.Sc, Ph.D.
(Anggota II Dewan Penguji)


(.....)
(.....)
(.....)

Dekan,

Ir. Sri Sumaryono, Ph.D
NIP. 682



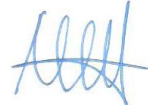
PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam naskah publikasi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kelak terbukti ada ketidakbenaran dalam pernyataan saya di atas, maka akan saya pertanggungjawabkan sepenuhnya.

Surakarta, 25 Januari 2018

Penulis



SEPTIANA AMBARWATI

D 500 130 085

PENGARUH NUTRISI DAN PH TERHADAP AKTIVITAS DEKOLORISASI REMAZOL BRILIANT BLUE R (RBBR) OLEH ENZIM LIGNINOLITIK DARI JAMUR *PLEUROTUS OSTREATUS* (F114 InaCC) DAN *LENTINULA EDODES* DENGAN SUBSTRAT LIMBAH BATANG AREN

Abstrak

Dekolorisasi Remazol Brillilant Blue R (RBBR) dapat dilakukan secara enzimatik. Enzim pendekolorisasi zat warna RBBR dapat diperoleh dari jamur *Pleurotus ostreatus* dan *Lentinula edodes* (shitake). Enzim yang dihasilkan oleh *pleurotus ostreatus* diantaranya enzim lakase, mangan peroksidase (MnP) dan lignin peroksidase (LiP). Pengujian aktivitas dekolorisasi RBBR dilakukan dengan mengekstrak ezim ligninolitik dan lignosellulatik dari jamur *pleurotus ostreatus* dan shitake. Miselium jamur dikembangkan pada medium PDA, setelah 6 hari miselium diinokulasikan pada substrat limbah batang aren dengan menambahkan nutrisi untuk memicu pertumbuhan awal jamur. Untuk mengetahui pengaruh nutrisi dan pH pada aktivitas dekolorisasi enzim dilakukan percobaan dengan memberikan nutrisi CuSO_4 sebesar 0,025; 0,05; 0,075 g/L dan dikondisikan pada lingkungan dengan pH 4; 5; 6. Setelah 6 hari enzim diekstrak dengan menambahkan buffer sitrat kemudian di sentrifugasi 10 menit dengan kecepatan 2000 rpm. Ekstrak enzim kemudian diaplikasikan pada zat warna RBBR dan di inkubasi selama 1 jam pada suhu 45°C. Aktivitas dekolorisasi oleh enzim ditentukan berdasarkan penurunan nilai absorbansi RBBR. Aktivitas enzim tertinggi jamur *pleurotus ostreatus* dicapai pada konsentrasi CuSO_4 0,075 g/L dan pada pH 4. Penambahan CuSO_4 mampu memicu sekresi enzim lakase dari jamur. Sedangkan pada shitake, aktivitas tertinggi dicapai pada konsentrasi CuSO_4 0,025g/L pada pH 5.

Kata kunci: Dekolorisasi RBBR, *Pleurotus ostreatus*, *Lentinula edodes*

Abstract

Decolorization of Brillilant Blue R (RBBR) Remazol can be carried out enzymatically. The RBBR dye-polarization enzyme can be obtained from the *Pleurotusostreatus* and *Lentinulaedodes* (shitake) fungi. Enzymes produced by *pleurotusostreatus* include lacase, manganese peroxidase (MnP) and lignin peroxidase (LiP) enzymes. RBBR decolorization activity test was performed by extracting ligninolytic and lignosellulatic enzymes from *Pleurotusostreatus* and shitake fungi. Mushroom mycelium was developed on a PDA medium, after 6 days of mycelium inoculated on palm stem waste substrate by adding nutrients to trigger early growth of the fungus. To determine the effect of nutrition and pH on activity of enzyme decolorization experiment was done by giving CuSO_4 nutrition equal to 0,025; 0.05; 0.075 g/L and conditioned in an environment with a pH of 4; 5; 6. After 6 days the enzyme is extracted by adding the citrate buffer then centrifugation at 10 minutes at 2000 rpm. The enzyme extract was then applied to the RBBR dye and incubated for 1 hour at 45°C. The activity of decolorization by enzyme is determined by the decrease of absorbance value of RBBR. The highest enzyme activity of *pleurotusostreatus* fungus was achieved at 0.075 g/L CuSO_4 concentration and at pH 4. The addition of CuSO_4 was able to trigger the secretion of lacase enzyme from fungi. While in shitake, the highest activity was achieved at 0.025 g/L CuSO_4 concentration at pH 5.

Keywords: RBBR Decolorization, *Pleurotus ostreatus*, *Lentinula edodes*

1. PENDAHULUAN

Zat warna Remazol Brilliant Blue R (RBBR) merupakan senyawa heterosiklis yang unsur pembentuknya dari quinone, terdiri dari cincin benzene dengan gugus hidroksil yang disebut phenol (Murugesan *et al.*, 2007). RBBR turunan antrasena merupakan kelas organopollutan yang bersifat beracun dan sulit diurai (Vyas *et al.*, 1995). Pewarna sintetik seperti RBBR menghasilkan air limbah pewarna yang sulit terurai yang akan mengganggu lingkungan. Untuk menanggulangi masalah tersebut dapat dilakukan dengan cara enzimatik. Cara penanggulangan secara enzimatik lebih efisien karena tidak menimbulkan limbah baru seperti endapan.

Enzim ligninolitik mampu mendekolorisasi zat warna RBBR. Enzim ligninolitik dapat diperoleh dari jamur *Pleurotus ostreatus* dan *Lentinula edodes* (shitake). Enzim yang dihasilkan oleh *Pleurotus ostreatus* di antaranya enzim lakase, mangan peroksidase (MnP) dan lignin peroksidase (LiP). Di antara ketiga enzim tersebut lakase adalah yang paling dominan. Pada medium cair hanya lakase yang dapat terdeteksi. Sedangkan *Lentinula edodes* mampu menghasilkan enzim hidrolitik (cellulases, laminarinases, xylanases) (Mata, 2016) dan enzim ligninolitik. Enzim lignocellulotic (Selulase, xylanase dan ligninase) merupakan enzim utama yang mampu memecah lignin dan limbah selulosa.

Jamur *Pleurotus ostreatus* dan *Lentinula edodes* mendegradasi lignin bahan lignoselulosa untuk menghasilkan enzim ligninolitik. Jamur dipilih sebagai salah satu organisasi biodekolorisasi yang mampu mendegradasi komponen warna yang bersifat toksik karena jamur mempunyai kemampuan untuk transformasi, yaitu merubah dari bahan kimia berbahaya pada limbah menjadi bentuk yang kurang atau tidak berbahaya (Awaluddin *et al.*, 2001).

Bahan lignoselulosa dapat diperoleh dari limbah industri seperti limbah produksi gula aren. Industri tepung aren (onggok) di Desa Daleman, Kecamatan Tulung, Kabupaten Klaten, Jawa Tengah merupakan sentra industri pati aren dengan limbah berupa serat sejumlah 259 ton/tahun atau 2,19 ton/hari. Kandungan serat terdiri dari selulosa (60.61%), hemiselulosa (15.74%), lignin (14.21%), air (7.87%), gulareduksi (0.5689%), dan lain-lain (1%).

Enzim ligninolitik mampu bekerja dengan baik ketika kondisi lingkungannya sesuai. Aktivitas dekolorisasi RBBR oleh enzim ligninolitik dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya nutrisi dan pH. Untuk mengetahui pengaruh nutrisi dan pH dilakukan percobaan dengan penambahan nutrisi CuSO₄ bervariasi dan pada kondisi pH bervariasi.

Reaksi enzimatik pada lakase merupakan reaksi oksidasi yang menghasilkan satu elektron hasil oksidasi senyawa fenol dan mereduksi oksigen menjadi air. Pemanfaatan lakase dapat diaplikasikan pada berbagai bidang industri antara lain pada proses bioremediasi dan biodegradasi

polutan organik pada tanah seperti klorofenol (Ahn *et al.*, 2002) proses dekolorisasi dan detoksifikasi pada pewarna tekstil (Abdullah *et al* 2000), dan proses bleaching pada biodelignifikasi pulp industri kertas (Bourbonnais & Paice, 1992). *Pleurotus Ostreatus* menghasilkan enzim lakase, enzim mangan peroksidase (MnP) dan enzim lignin peroxidase (LiP). Enzim lakase adalah enzim yang paling dominan, terbukti ketika enzim di aplikasikan pada kultur cair hanya aktivitas lakase yang terdeteksi sedangkan MnP dan LiP tidak terdeteksi (Fengxue, 2013). *Pleurotus Ostreatus* diidentifikasi sebagai agen utama air limbah penghilangan warna dengan enzim lakase (Faraco *et al.*, 2009).

Pertumbuhan lakase dapat ditingkatkan dengan penambahan Cu (II) dengan jumlah yang rendah dalam glukosa sederhana. Penggunaan glukosa adalah sebagai sumber karbon utama. Lakase akan terbentuk jika glukosa benar-benar dikonsumsi dari medium kultur. Selain itu, nitrogen juga berperan penting sebagai perpaduan pertumbuhan lakase. Kondisi yang optimal untuk substrat yaitu mengandung glukosa (40 gram/L), pepton dari daging (10 g/L), MgSO₄·7H₂O dan untuk merangsang pembentukan enzim diperlukan penambahan 2,0 nM Cu (Imran *et al.*, 2012).

Metode yang digunakan untuk mengukur nilai absorbansi dekolorisasi warna pada percobaan ini ialah metode spektrofotometri (Sastrohamidjojo, 2001). Penelitian ini menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 595 nm untuk RBBR (*Remazol Brilliant Blue R*) (Ang *et al.*, 2014).

2. METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Muhammadiyah Surakarta. Untuk keperluan penelitian ini, Isolat jamur *Pleurotus ostreatus* diperoleh dari kultur murni koleksi LIPI InaCC (Indonesia Culture Collection) dan jamur Shiitake dari Agro Jamur Pabuaran diinokulasi pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*) sebagai kultur kerja dan kultur stok. Kultur stok akan disubkultur setiap satu bulan sekali. Kemudian subkultur isolate diinkubasi pada suhu 30°C hingga tumbuh merata selama 6 hari.

Dalam menguji aktivitas dekolorisasi RBBR oleh jamur *Pleurotus ostreatus* dan *Lentinula edodes* secara SSF (*Solid State Fermentation*) dilakukan dengan tahap persiapan medium Kirk dengan komposisi: (NH₄)SO₄ 0,0014 g/mL, KH₂PO₄ 0,002 g/mL, MgSO₄ 0,0003 g/mL, CaCl₂ 0,0003 g/mL, FeSO₄ 0,007 g/mL, ZnSO₄ 0,006 g/mL, MnSO₄ 0,01 g/mL, CoCl₂ 0,002 g/mL, CuSO₄ 0,125 g/mL, dan Glukosa 0,01 g/mL. CuSO₄ divariasi dengan konsentrasi 0,025; 0,05; 0,075g/L pada kondisi pH 4, 5, 6. Substrat ampas batang aren sebanyak 1,5 gram dimasukkan kedalam erlenmeyer 250 mL dan direndam dengan medium kirk sebanyak 10 mL kemudian disterilisasi menggunakan autoclave pada temperatur 121°C selama 20 menit. Setelah dingin,

kultur jamur pada media PDA dengan ukuran 1 cm x 1 cm diinokulasi secara aseptis kedalam media. Kultivasi dijalankan dengan diinkubasi pada suhu 30°C selama 6 hari.

Setelah dikultivasi kemudian diekstraksi menggunakan larutan buffer sitrat pH 5 sebanyak 20 mL. Selanjutnya di *shaker* dengan kecepatan 100 rpm selama 1 jam. Larutan dan substrat di dekantasi dari Erlenmeyer dan dipindahkan kedalam tabung sentrifugasi. Disentrifugasi 2000 rpm selama 10 menit. Supernatan (cairan sampel yang telah disentrifugasi) digunakan untuk mendekolorisasi zat warna limbah cair batik.

Dekolorisasi RBBR dilakukan dengan cara memasukkan supernatant sebanyak 1,2 mL ditambahkan 2 mL larutan buffer sitrat dan 0,3 mL RBBR kedalam sebuah botol. Percobaan dilakukan dua kali, botol pertama dimasukkan kedalam es, sedangkan botol kedua di waterbath pada suhu 45°C selama 1 jam. Absorbansi radikal kation diamati pada panjang gelombang 595 nm selama 1 menit menggunakan spektrofotometer Genesis 10 UV-Visible. Satu unit aktivitas didefinisikan sebagai seberapa besar enzim lakase yang dapat mendekolorisasi zat warna RBBR. Botol pertama di uji absorbansinya sebagai absorbansi awal, Botol kedua di uji absorbansinya sebagai absorbansi akhir. Persentase dari dekolorisasi RBBR dikalkulasikan sebagai berikut :

$$\text{Dekolorisasi, (\%)} = \frac{A_o - A_t}{A_o} \times 100\%$$

Keterangan:

A_o = Absorbansi awal

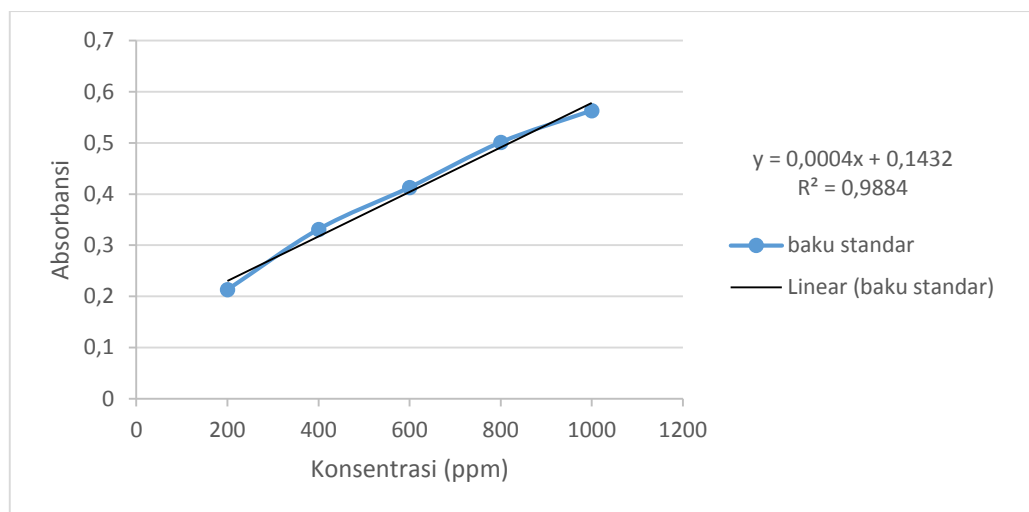
A_t = Absorbansi akhir

Aktivitas dekolorisasi RBBR dirancang dengan menguji pengaruh penambahan nutrisi CuSO_4 0,025; 0,05; 0,075 g/L dan mengkondisikan medium SSF pada pH 4;5;6 dengan variabel tetap yang ditentukan adalah kadar air sebesar 87%, waktu inkubasi 6 hari, suhu inkubasi 30°C dan RBBR 1 g/L. Uji aktivitas dekolorisasi ditentukan berdasarkan penurunan nilai absorbansi pada panjang gelombang 595 nm.

Supernatan sebanyak 1,2 mL dimasukkan kedalam 2 mL larutan buffer pH 5 dan larutan RBBR 0,3 mL yang terdapat dalam dua buah tabung yang sama dengan komposisi yang sama, selanjutnya larutan dikocok agar tercampur homogen. Tabung pertama direndam dalam air es, sedangkan tabung kedua di waterbath dengan suhu 45°C selama 1 jam. Kemudian dilakukan uji dekolorisasi enzim mengukur nilai absorbansi awal dan absorbansi akhir.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Konsentrasi awal RBBR sebelum diaplikasikan pada ekstrak jamur *Pleurotus ostreatus* dan *Lentinula edodes* sebesar 1 g/L. Penentuan konsentrasi suatu analit dapat dilakukan dengan penentuan kurva standar, yaitu dengan membuat beberapa larutan standar yang telah diketahui konsentrasinya. Kemudian larutan standar dianalisis sehingga didapat data absorbansi dari larutan standar tersebut setelah itu larutan sampel dianalisis. Dengan membuat kurva antara absorbansi dengan konsentrasi akan didapatkan suatu persamaan yang digunakan untuk menghitung konsentrasi dalam sampel.

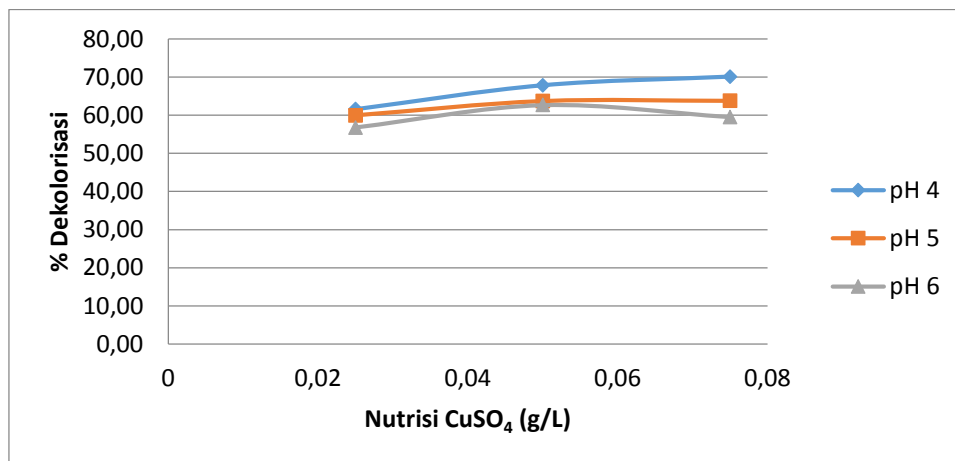


Gambar 1. Kurva Standar RBBR

Enzim ligninolitik yang paling dominan adalah enzim lakase. Cu^{2+} telah dilaporkan menjadi induser lakase yang kuat dan sekresi lakase meningkat secara signifikan dengan adanya Cu^{2+} . Aktivitas lakase akan rendah tanpa adanya Cu^{2+} dan Mn^{2+} . Mn^{2+} sedikit meningkatkan aktivitas lakase sedangkan Cu^{2+} lebih meningkatkan aktivitas lakase (Abo-State M.A.M, 2011). Hal ini sesuai dengan percobaan yang telah dilakukan dengan penambahan kadar Cu 0,025; 0,05; 0,075g/L pada *Pleurotus ostreatus* mampu meningkatkan aktivitas enzim lakase yang diaplikasikan pada proses dekolorisasi RBBR. Aktivitas dekolorisasi tertinggi dicapai pada konsentrasi nutrisi Cu 0,075 g/L sebesar 70,14% dan pada medium dengan pH 4.

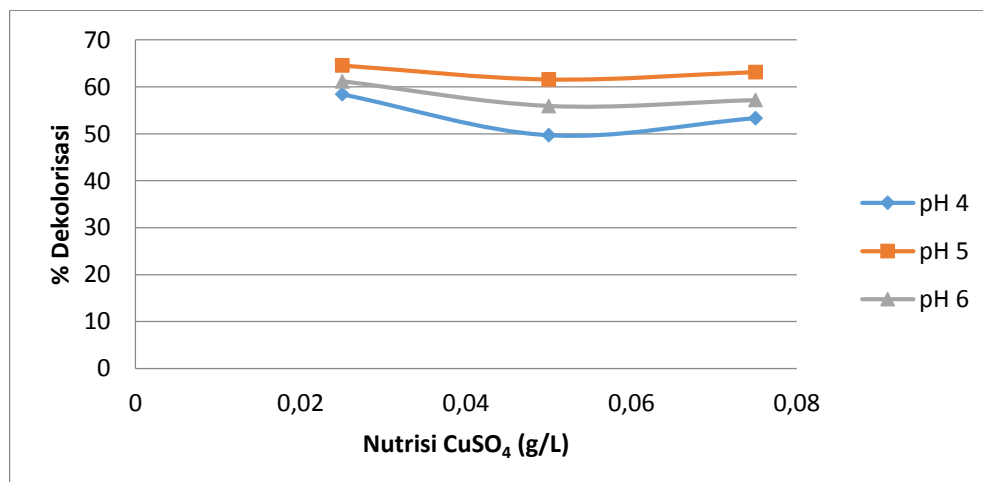
Katia Maria (2006) mengatakan bahwa dekolorisasi RBBR oleh ekstrak *Pleurotus ostreatus* memberikan hasil maksimal pada pH 4. Hasil Penelitian menunjukkan adanya kondisi pH 4 memberikan aktivitas dekolorisasi paling tinggi sebesar 70,14%. Hal ini sesuai dengan penelitian yang sudah dilakukan oleh Katia Maria. Kondisi lingkungan jamur yang sesuai mampu memaksimalkan kerja enzim ligninolitik untuk mendekolorisasai RBBR.

Aktivitas *Pleurotus ostreatus* dalam proses dekolorisasi menyebabkan terjadinya perubahan derajat keasaman (pH) limbah batik. Berdasarkan hasil penelitian Wulandari *et al.*, (2014) menunjukkan bahwa semakin asam nilai pH maka semakin besar presentase dekolorisasi yang dihasilkan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hadiananto (2000), bahwa pada kondisi pH yang semakin kuat atau asam maka nilai absorbansi semakin menurun sehingga presentase dekolorisasi semakin besar.



Gambar 2. Pengaruh nutrisi Cu dan pH proses dekolorisasi oleh *Pleurotus ostreatus*

Keadaan yang berbeda ditemukan pada jamur shitake. Dekolorisasi RBBR maksimal diperoleh pada pH 5 dan pada konsentrasi Cu 0,025% sebesar 64,16%. Jika dibandingkan dengan jamur *Pleurotusostreatus*, aktivitas dekolorisasi RBBR jamur shitake lebih rendah.



Gambar 3. Pengaruh nutrisi Cu dan pH proses dekolorisasi RBBR oleh *Lentinula edodes*

Jamur shitake diketahui mempunyai lebih dari 30 enzim terutama amilase yang penting untuk pencernaan dan selulase mencerna selulosa. Shitake juga mampu menghasilkan enzim hidrolitik (cellulases, laminarinases, xylanases)(Mata, 2016) dan enzim ligninolitik. Enzim

lignocelulotik (Selulase, xylanase dan ligninase) merupakan enzim utama yang mampu memecah lignin dan limbah selulosa.

Pada penambahan CuSO_4 tidak terlalu berpengaruh pada aktivitas dekolorisasi RBBR oleh shitake. Terlihat bahwa pada (gambar.3) pengaruh CuSO_4 menunjukkan garis hampir linier. Hal ini dikarenakan CuSO_4 hanya mampu meningkatkan sekresi enzim ligninolitik seperti lakase, sedangkan jamur shiake menghasilkan beberapa enzim seperti selulase, xylanase dan ligninase.

4. PENUTUP

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut: Aktivitas dekolorisasi RBBR (*Remazol Brilliant Blue R*) oleh enzim ligninolitik dipengaruhi oleh nutrisi CuSO_4 dan pH. Aktivitas dekolorisasi RBBR oleh enzim ligninolitik dari jamur *Pleurotus ostreatus* maksimal pada penambahan nutrisi CuSO_4 0,075 g/L pada pH 4, sedangkan aktivitas dekolorisasi dari jamur *Lentinula edodes* tidak terlalu berpengaruh pada penambahan nutrisi CuSO_4 dan pH maksimal dicapai pada pH 5.

DAFTAR PUSTAKA

- Abo-state M.A.M, Khatab.O, Abo-EL nasar.A and Mahmoud.B, 2011. *Factors affecting laccase production by pleurotus ostreatus and Pleurotus sajor-caju*. World Applied Sciences Journal. 14(11):1607-1619.
- Abdullah E, Tzanov T, Costa S, Robra KH, Cavoca-Paulo A, Gubitz GM. 2000. *Decolorization and Deoxification of Textile dyes with a laccase from Trametes Hirsute*. Appl Environ Microbiol. 66: 3357-3362.
- Ahn MY, Dec J, Kim JE, Bollog JM. 2002. *Treatment of 2,4-dichlorophenol Polluted Soil With Free and Immobilized Laccase*. J Environ Qual. 31: 1509-1515.
- Ang T.N, G.C Ngoh, ASM Chua dan I. Ismail. 2014. *Remazol Brilliant Blue R Dye Decolourization by Laccase Produced by Pleurotus Sajor-caju via Solid-State Fermentation*. Proceeding the Regional Conference Chemical Engineering. Yogyakarta, ISBN 978-602-71398-0-0.
- Awaluddin R, Darah S, Ibrahim CD, uyub AM. 2001. *Decolorization of Commercially Available Synthetic Dyes By The Whiterot Fungus Phanerochaete Chrysosporium*. J Fungi and Bactery 62 : 55-63.
- Bourbonnais R, Paice MG. 1992. *Demethylation and Delignification of Kraf Pulp by Trametes Versicolor Laccase in The Presence of 2,2-azinobis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate)*. Appl Microbiol Biotechnol. 36: 823-827.
- Faraco V, Pezzella C, Miele a, Giardina P, Sannia G. 2009. *Bioremediation of*

- Fengxue xin, Yumeng Sun, Siyao Hu, Kartai Cheong, Anli Geng. 2013. *Decolorization of Remazol Brilliant Blue R by Enzymatic Extract and Submerged Cultures of Newly Isolated Pleurotus ostreatus*. Arican Journal of Biotechnology. Vol.12:39
- Imran M, Asad MJ, Hadri SH, dan Mehmood S. 2012. *Production and Industrial Applications of Laccase Enzyme*. Journal of Cell and Molecular Biology. 10(1), 1-11.
- Katia Maria. G. M.,Mathcus.D.R. 2016. *Biodegradation of Remazol Brilliant Blue R by Lignolytic Enzym Complex Produced by Pleurotus ostreatus*. Brazilia Journal of Microbiology. 37:48-473
- Mata Gerardo, Salmones Dulce, Perez-Melco Rosalia. 2016. *Hydrolitic Enzym Activities in Shiitake Mushroom (Lentinula edodes) Stains Cultivated on Coffe Pulp*. Rev Argent Micribiology. 48(3):191-195
- Murugesan, K, Nam, Young-Mo Kim, and Yoon_Seok Chang. 2007. *Decolorization of Reactive Dye by a Thermostable Laccase Produced by Ganoderma lucidum_ in Solid State Culture*. Journal of Enzyme andMicrobial Technology 40 : 1662-1672.
- Sastrohamidjojo H. 2001. *Spektroskopi*. Ed ke-2. Yogyakarta : Liberty.
- Vyas, B.R, Molitores, H.P. 1995. *Involvement Of an Extracellular H₂O₂-Dependent Lignolytic Activity Of The White Rot Fungus Pleurotus Ostreatus in The Decolorization of Remazol Brilliant Blue R*. Appl. Environ. Microbiol., 61, 3919-3927.